

本文引用: 胡佳, 成姣, 谢佳欣, 等. 硫化氢上调 WDR26 减轻内皮细胞缺氧复氧损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2025, 33(12): 1046-1053. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2025.12.006.

· 实验研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2025)33-12-1046-08

硫化氢上调 WDR26 减轻内皮细胞缺氧复氧损伤

胡佳^{1,2}, 成姣³, 谢佳欣⁴, 刘焯⁵, 韦星²

1. 南华大学附属第一医院病理科, 湖南省衡阳市 421001; 2. 南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室 湖南省动脉硬化性疾病国际科技创新合作基地, 湖南省衡阳市 421001; 3. 永州市中心血站检验科, 湖南省永州市 425000; 4. 昭衍(苏州)新药研究中心有限公司, 江苏省苏州市 215421; 5. 南华大学衡阳医学院, 湖南省衡阳市 421001

[摘要] **[目的]** 探讨硫化氢(H₂S)是否通过上调 WD 重复蛋白 26(WDR26)表达来减轻内皮细胞缺氧复氧(H/R)损伤。**[方法]** 体外培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC), 缺氧(5% O₂, 5% CO₂) 16 h/复氧(20% O₂, 5% CO₂) 3 h 造成 H/R 损伤。采用慢病毒转染技术构建 WDR26 基因敲低和过表达的 HUVEC 模型, 并通过比色法检测丙二醛(MDA)含量及 CCK-8 检测细胞存活率; 采用免疫荧光法检测细胞中活性氧(ROS)含量; 采用 Western blot 检测 WDR26 和凋亡相关蛋白的表达; 采用 ELISA 检测培养上清液中乳酸脱氢酶(LDH)、细胞间黏附分子 1(ICAM-1)和内皮素 1(ET-1)含量。**[结果]** 外源性 H₂S 供体 NaHS 能够增加 H/R 内皮细胞存活率, 降低 ROS 和 MDA 含量, 进而减轻内皮细胞损伤以及氧化应激反应($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。NaHS 可使 WDR26 蛋白表达增高($P < 0.05$)。过表达 WDR26 能够增加 H/R 内皮细胞存活率, 降低 LDH 含量, 减少凋亡相关蛋白 Caspase-3、p53 和 Bax 的表达, 进而减轻内皮细胞损伤, 缓解细胞凋亡; 反之, 抑制 WDR26 表达则会出现相反的结果($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。NaHS 和/或过表达 WDR26 能够增加细胞存活率, 减少培养上清液中 LDH、ICAM-1 和 ET-1 含量, 进而改善内皮细胞功能; 过表达/抑制表达 WDR26 可增强/削弱其保护作用(均 $P < 0.05$)。**[结论]** H₂S 可减轻内皮细胞 H/R 损伤, 其作用部分依赖于上调 WDR26 表达。

[关键词] 硫化氢; WD 重复蛋白 26; 内皮细胞; 缺氧复氧损伤

[中图分类号] R5; R363

[文献标识码] A

Hydrogen sulfide upregulates WDR26 and alleviates hypoxia/reoxygenation injury in endothelial cells

HU Jia^{1,2}, CHENG Jiao³, XIE Jiabin⁴, LIU Ye⁵, WEI Xing²

1. Department of Pathology, First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Institute of Cardiovascular Diseases & Key Laboratory for Arteriosclerosis of Hunan Province & Hunan International Scientific and Technological Cooperation Base of Arteriosclerotic Disease, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 3. Department of Laboratory, Central Blood Station of Yongzhou City, Yongzhou, Hunan 425000, China; 4. JOINN Laboratories (Suzhou) Co., Ltd., Suzhou, Jiangsu 215421, China; 5. Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether hydrogen sulfide (H₂S) alleviates endothelial cell hypoxia/reoxygenation (H/R) injury by upregulating the expression of WD repeat protein 26 (WDR26). **Methods** Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were cultured *in vitro* under hypoxic conditions (5% O₂, 5% CO₂) for 16 h followed by reoxygenation (20% O₂, 5% CO₂) for 3 h to induce H/R injury. HUVEC models with WDR26 gene knockdown and overexpression were constructed using lentiviral transfection technology. The content of malondialdehyde (MDA) was detected by colorimetric method and the cell survival rate was detected by CCK-8; the content of reactive oxygen species (ROS) in the cells was detected by immunofluorescence method; the expressions of WDR26 and apoptosis-related proteins were detected by Western blot; the contents of lactate dehydrogenase (LDH), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and endothe-

[收稿日期] 2025-08-12

[修回日期] 2025-11-28

[基金项目] 湖南省教育厅科学研究重点项目(19A432)

[作者简介] 胡佳, 硕士, 技师, 研究方向为心血管病病因、发病机制及防治, E-mail: 879471434@qq.com。通信作者韦星, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为心血管病病因、发病机制及防治, E-mail: weijiajun17528@163.com。

lin-1 (ET-1) in the cultured supernatant were detected by ELISA. **Results** The exogenous H₂S donor NaHS could increase the survival rate of H/R endothelial cells, reduce ROS and MDA contents, and thereby alleviating endothelial cell damage and oxidative stress response ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). NaHS could increase the expression of WDR26 protein ($P < 0.05$). Overexpression of WDR26 could increase the survival rate of H/R endothelial cells, reduce LDH content, decrease the expression of apoptosis related proteins Caspase-3, p53 and Bax, thereby reducing endothelial cell damage and alleviating cell apoptosis; on the contrary, inhibiting WDR26 expression would result in the opposite effect ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). NaHS and/or overexpression of WDR26 could increase cell survival rate, reduce LDH, ICAM-1 and ET-1 in the cultured supernatant, and thereby improve endothelial cell function; overexpression/inhibition of WDR26 could enhance/weaken its protective effect (all $P < 0.05$). **Conclusion** H₂S can alleviate H/R injury of endothelial cells, and its effect is partly dependent on upregulation of WDR26.

[**KEY WORDS**] hydrogen sulfide; WD repeat protein 26; endothelial cell; hypoxia/reoxygenation injury

目前临床上大多采用溶栓、经皮冠状动脉介入治疗以及冠状动脉旁路移植手术等方式,使梗死心肌恢复血流灌注^[1-2]。然而,经过血运重建的心肌组织或许会出现无复流(no-reflow, NR)或慢复流现象,这在一定程度上会抵消再灌注治疗带来的益处,甚至会加重心肌损伤,对患者生命构成威胁^[3]。研究发现, NR 现象除了与肿胀的心肌组织存在关联外,还与内皮细胞的结构和功能损害相关^[4]。硫化氢(H₂S)作为气体信号分子具备重要的生物学功能,在心血管系统、神经系统、消化系统和免疫系统的稳态维持中发挥着关键作用^[5-8]。研究表明,给予外源性 H₂S 可以保护心肌,减少缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R) 心肌的梗死面积^[9]。本课题组的前期研究证实,作为外源性 H₂S 的供体,硫化氢钠(NaHS)能改善大鼠心肌 NR 现象,挽救部分心脏功能,但其作用机制有待进一步探索。WD 重复蛋白 26(WD repeat protein 26, WDR26)是近年来新发现的一个人类基因,该基因缺失及其蛋白质的过表达或低表达,能够调节细胞凋亡、自噬、迁移等生命活动,在信号转导和转录过程中发挥着重要作用,并且对抑郁症、I/R 损伤、贫血等病理过程有着显著影响^[10-13]。依据生物信息学预测, WDR26 在众多组织和器官里,特别是在心脏、神经、脂肪组织以及血管中呈现较高表达^[14]。H₂S 能够减轻大鼠心肌 NR 现象,然而, H₂S 是否可通过调控 WDR26 的表达来发挥其保护作用,这值得进一步深入探究。本研究以人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)为研究对象,具体观察了 H₂S 减轻内皮细胞缺氧复氧(hypoxia/reoxygenation, H/R)损伤的机制是否与 WDR26 表达的上调有关。

1 材料和方法

1.1 细胞和主要试剂

原代 HUVEC(中国科学院细胞库);细胞计数检

测试剂盒(江苏碧云天生物技术公司);丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒(南京建成公司);二氢乙啶(dihydroethidium, DHE)荧光探针(凯基生物); WDR26 抗体(Abcam 公司); p53 抗体、Bax 抗体和 Caspase-3 抗体(Proteintech 公司);细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)和内皮素 1(endothelin-1, ET-1) ELISA 试剂盒(武汉华美生物技术公司);慢病毒转染剂(上海吉凯公司)。

1.2 内皮细胞 H/R 模型的构建

参照文献[15],将内皮细胞培养于无糖无血清培养基中,并置于含 90% N₂、5% CO₂、5% O₂ 的三气培养箱中低氧处理 16 h,然后转入含糖含血清培养基,置于含 95% 空气(含 21% O₂)、5% CO₂ 的培养箱中复氧 3 h,以此进行细胞的 H/R 处理。

1.3 实验分组与处理方法

在缺氧结束时加入不同浓度的 NaHS,实验分为 0、200、400、800 及 1 600 μmol/L NaHS 组。为探究 H₂S 对内皮细胞 H/R 损伤中 WDR26 表达的影响,在 H/R 的基础上,依据缺氧结束时是否加入 NaHS(400 μmol/L)和/或内源性 H₂S 抑制剂炔丙基甘氨酸(propargylglycine, PPG)(10 mmol/L)进行孵育,细胞被分为 4 组:H/R 组、NaHS+H/R 组、PPG+H/R 组、PPG+NaHS+H/R 组。为探究 WDR26 在内皮细胞 H/R 损伤中发挥的作用,细胞分别转染空载体/过表达/抑制慢病毒 1、2、3,并依此分为 Con 组、LV-Con 组、LV-WDR26 组、WDR26 shRNA-1、-2、-3 组;在培养基中加入 1 mg/L 嘌呤霉素以保证转染效率,筛选出稳定株后进行 H/R 处理,依此将细胞分为 H/R 组、LV-Con+H/R 组、LV-WDR26+H/R 组、WDR26 shRNA+H/R 组。为探究 WDR26 在 H₂S 减轻内皮细胞 H/R 损伤中所起的作用,将细胞分为 LV-Con 组、LV-WDR26 组、WDR26 shRNA 组、LV-Con+NaHS 组、LV-WDR26+NaHS 组、WDR26 shRNA+

NaHS 组, 并进行 H/R 处理。

1.4 细胞存活率检测

细胞在避光条件下每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 培养箱内孵育 1 h 后置于酶标仪中, 于 450 nm 波长测 OD 值, 取 3 孔平均值作为实验结果。

1.5 活性氧含量检测

在避光环境下, 将细胞培养液更换为含有 DHE 荧光探针的新鲜培养液, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下孵育 40 min, 然后置于荧光显微镜下观察并采集图片(激发波长 535 nm, 曝光时间 140 ms), 使用 Image J 软件进行分析。

1.6 MDA 含量检测

按照试剂说明书留取培养上清液, 加入 96 孔板并置于酶标仪中, 于 440 nm 波长测 OD 值, 取 3 孔平均值作为实验结果。

1.7 Western blot 检测凋亡相关蛋白表达

收集各组对数生长期 HUVEC, 加入裂解液和苯甲基磺酰氟, 提取细胞总蛋白, 用 BCA 蛋白定量检测试剂盒检测蛋白浓度。以 50 μg 蛋白样品与上样缓冲液充分混匀后点样, 制胶后上样, 经过电泳、转膜、封闭和抗体孵育后, 配制显影液进行显影, 应用自动凝胶成像系统分析各条带灰度值。

1.8 LDH、ET-1 和 ICAM-1 的检测

取培养上清液, 采用 ELISA 检测 LDH、ET-1 和 ICAM-1 含量, 操作按照试剂说明书进行。

1.9 统计学分析

所有指标均取 3 次重复测量的平均值。采用 GraphPad Prism 6.0 软件对数据进行统计学分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 *t* 检验, 双侧 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 H_2S 减轻内皮细胞 H/R 损伤

与 0 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 组相比, 200、400 和 800 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 组细胞存活率增加, 分别增加了 36%、58% 和 39% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 当 NaHS 浓度达到 400 $\mu\text{mol/L}$ 后, 随着 NaHS 浓度的进一步升高, 细胞存活率呈现出降低的趋势。与 0 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 组相比, 200 $\mu\text{mol/L}$ 和 400 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 组活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 含量分别降低了 41% 和 56%, 而 1 600 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 组则升高了 41% ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与 0 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 组相比, 200、400 和 800 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 能够拮抗内皮细胞 H/R 损伤, 减少 MDA 的释放 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$; 图 1)。以上结果表明, 一定浓度的外源性 H_2S , 尤其是 400 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 能够减轻 H/R 内皮细胞的损伤及氧化应激, 但随着 NaHS 浓度的逐渐升高, 其保护作用减弱。

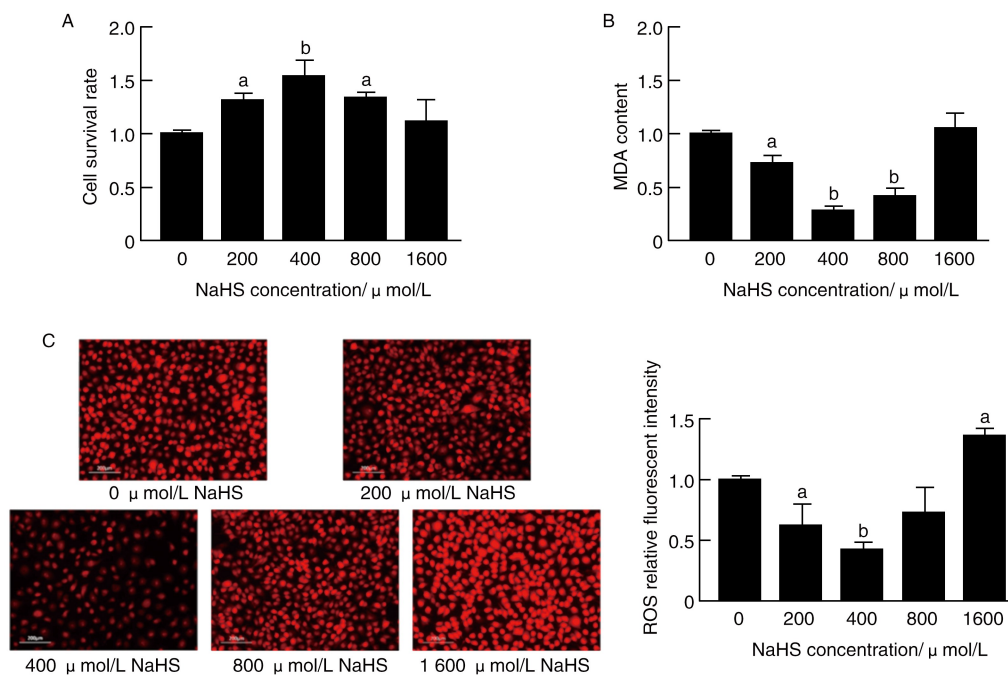


图 1. 不同浓度的 NaHS 处理后 H/R 内皮细胞相关指标的变化

A 为细胞存活率的变化, B 为 MDA 含量的变化, C 为 ROS 含量的变化。标尺 = 200 μm 。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 0 $\mu\text{mol/L}$ NaHS 组比较。

Figure 1. Changes in related indicators of H/R endothelial cells after treated with different concentrations of NaHS

2.2 H₂S 上调 H/R 内皮细胞 WDR26 的表达

与 H/R 组相比,NaHS+H/R 组内皮细胞 WDR26 蛋白的表达升高了 25%,而 PPG+H/R 组则降低了 53%(均 $P<0.05$;图 2),这表明外源性 H₂S 能够上调 H/R 内皮细胞 WDR26 的表达。

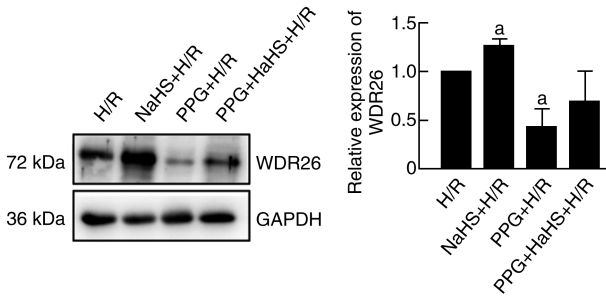


图 2. NaHS 处理对 H/R 内皮细胞 WDR26 蛋白表达的影响
a 为 $P<0.05$,与 H/R 组比较。

Figure 2. Effects of NaHS treatment on the expression of WDR26 protein in H/R endothelial cells

2.3 过表达 WDR26 减轻内皮细胞 H/R 损伤

与 LV-Con 组相比,LV-WDR26 组细胞 WDR26 蛋白的表达显著升高,WDR26 shRNA-1 组细胞 WDR26 蛋白的表达显著降低(均 $P<0.01$;图 3)。因此,后期实验均采用 LV-WDR26 和 WDR26 shWDR26-1 细胞建立稳定转染株。与 H/R 组相比,LV-WDR26+H/R 组细胞存活率增加 43%,细胞培养上清液中 LDH 含量下降 75%,WDR26 蛋白表达升高 62%,Caspase-3、p53 和 Bax 蛋白表达分别下降 19%、22%、30%;而 WDR26 shRNA+H/R 组细胞存活率下降 26%,LDH 含量增加至 2.2 倍,WDR26 蛋白表达下降 27%,Caspase-3、p53 和 Bax 蛋白表达分别增加 38%、23%、46%($P<0.05$ 或 $P<0.01$;图 4)。以上结果显示,过表达 WDR26 能够显著增加细胞存活率,抑制 LDH 的生成,减少 H/R 内皮细胞中凋亡蛋白(Caspase-3、p53、Bax 蛋白)的产生;而抑制 WDR26 的表达时,结果则与之相反。以上情况提示,WDR26 可减轻内皮细胞 H/R 损伤。

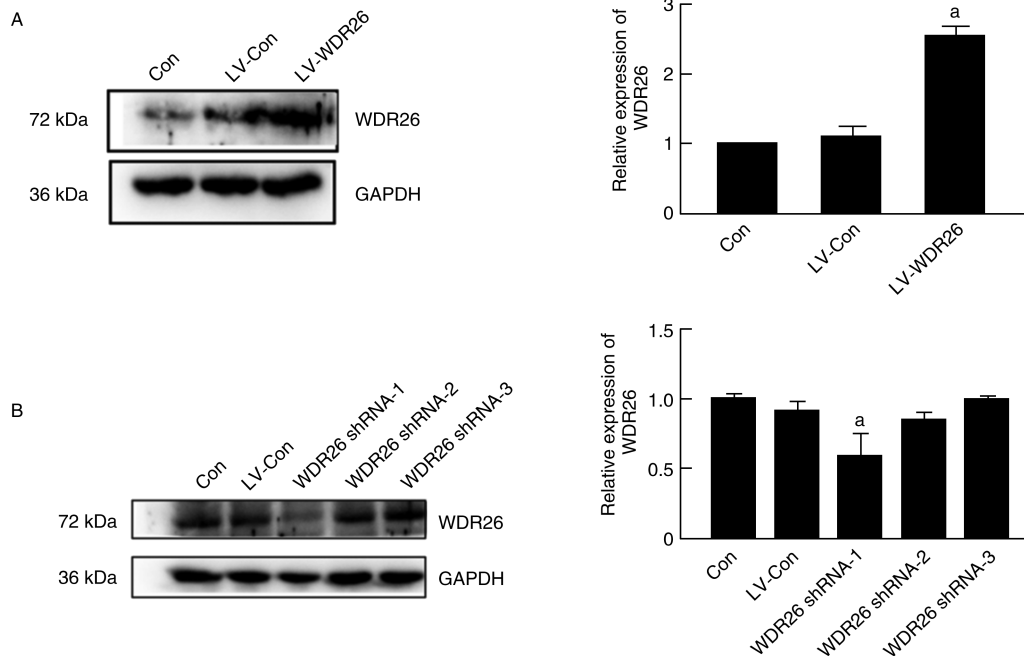


图 3. 慢病毒转染后 WDR26 蛋白的表达

A 为过表达慢病毒转染,B 为抑制慢病毒转染。a 为 $P<0.01$,与 LV-Con 组比较。

Figure 3. Expressions of WDR26 protein after lentivirus transfection

2.4 H₂S 通过上调 WDR26 表达减轻内皮细胞 H/R 损伤

与 LV-Con 组相比,LV-Con+NaHS 组细胞存活率增加 38%,LDH、ICAM-1 及 ET-1 含量分别降低 57%、35% 和 54%($P<0.05$);LV-WDR26 组细胞存

活率增加 45%,LDH、ICAM-1 及 ET-1 含量分别降低 63%、65% 和 35%,在此基础上加入 NaHS 处理后,细胞存活率增加 38%,LDH、ICAM-1 及 ET-1 含量分别降低 46%、77% 和 73%($P<0.05$);WDR26 shRNA 组细胞存活率降低 32%,LDH、ICAM-1 和 ET-1 含量

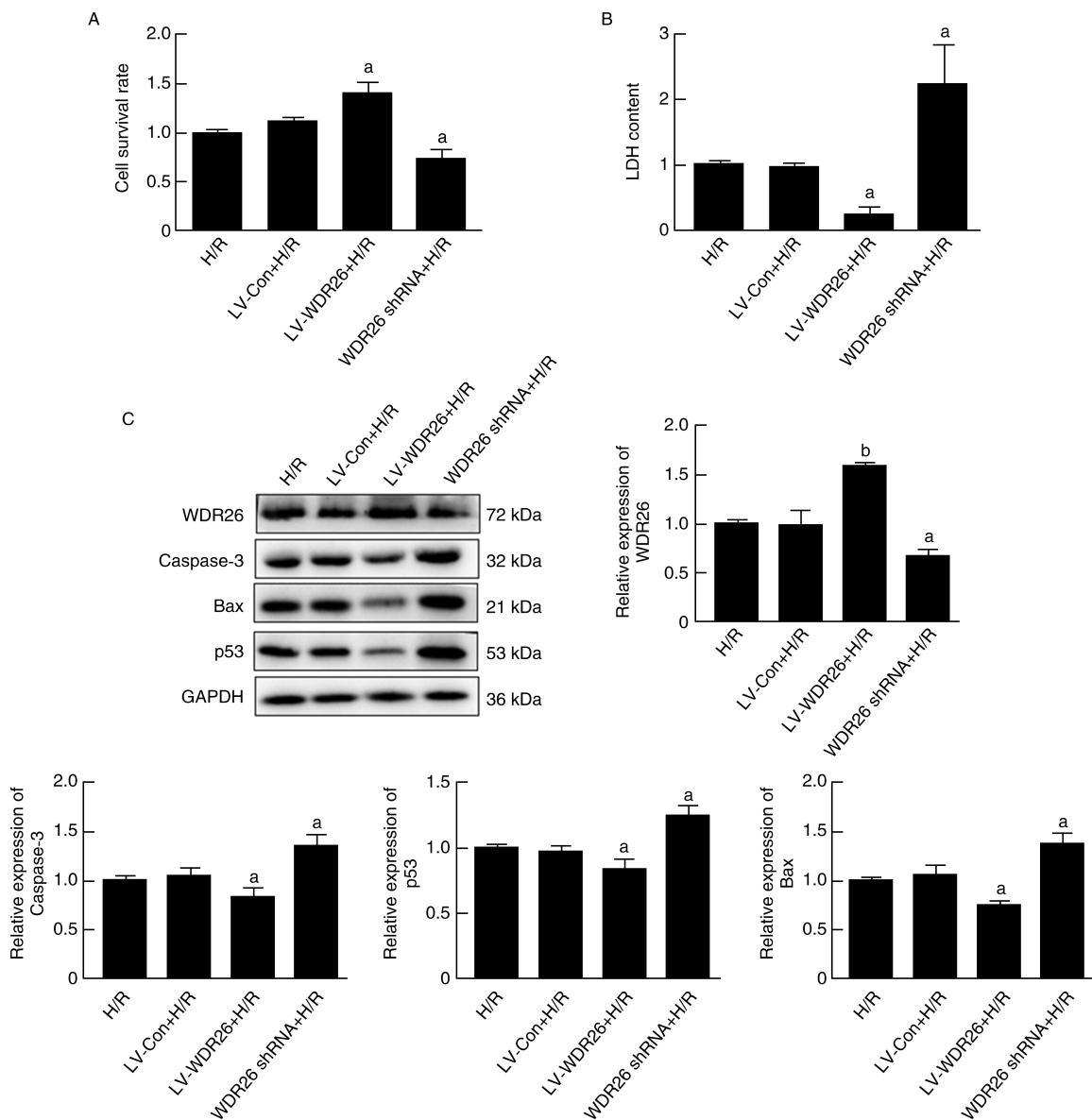


图 4. WDR26 过表达/抑制表达对内皮细胞 H/R 损伤的影响

A 为细胞存活率的变化, B 为细胞培养上清液中 LDH 含量的变化, C 为凋亡相关蛋白表达的变化。

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 H/R 组比较。

Figure 4. Effects of WDR26 overexpression/inhibition expression on H/R injury in endothelial cells

分别增高 77%、72% 和 46%, 在此基础上加入 NaHS 处理后, 细胞存活率增加 59%, LDH、ICAM-1 及 ET-1 含量分别下降 49%、33% 和 45% ($P < 0.05$)。与 LV-Con+NaHS 组相比, LV-WDR26+NaHS 组细胞存活率增加 45%, LDH、ICAM-1 及 ET-1 含量分别降低 57%、87% 和 63%, 而 WDR26 shRNA+NaHS 组细胞存活率降低 14%, LDH、ICAM-1 及 ET-1 含量分别增高 96%、77% 和 76% (均 $P < 0.05$; 图 5)。以上结果提示, 外源性 H_2S 能减轻内皮细胞 H/R 损伤, 并抑制 ICAM-1 和 ET-1 的表达, 该作用与 WDR26 表达增加有关。

3 讨论

H_2S 作为内源性气体信号分子, 已被证实具有神经递质功能, 在人体的生理与病理过程中发挥着重要功能。众多实验证实, H_2S 能够在心血管系统中发挥保护功效, 例如: 促使血管舒张, 进而调节血压; 刺激缺血心肌组织生成新的血管, 以改善血液供应; 减轻 I/R 心肌的氧化应激反应等^[16-18]。

经皮冠状动脉介入治疗这种方法在梗死早期应用时, 能够使心肌恢复血流灌注, 减轻心肌损伤, 改善心脏功能^[19]。然而, 其术后的严重并发症心肌

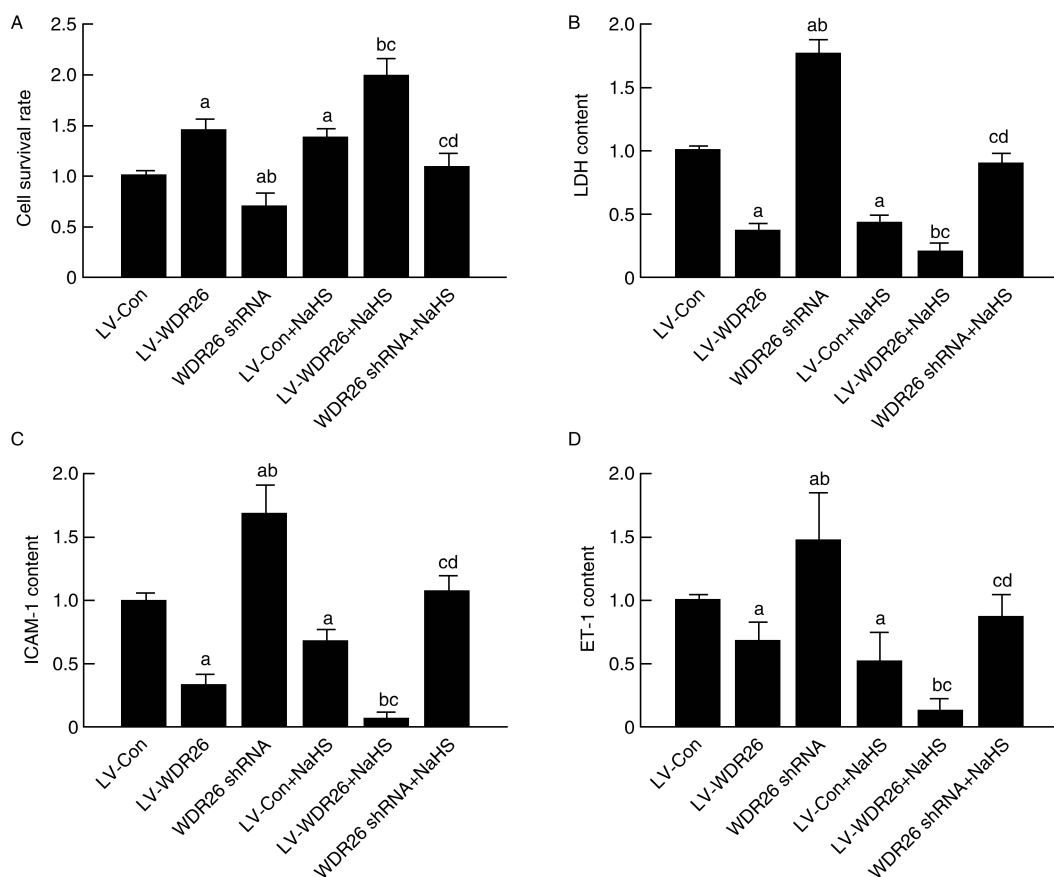


图 5. NaHS 通过上调 WDR26 对内皮细胞 H/R 损伤的影响

A 为细胞存活率的变化, B 为细胞培养上清液中 LDH 含量的变化, C 为细胞培养上清液中 ICAM-1 含量的变化, D 为细胞培养上清液中 ET-1 含量的变化。
a 为 $P < 0.05$, 与 LV-Con 组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 LV-WDR26 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 LV-Con+NaHS 组比较; d 为 $P < 0.05$, 与 WDR26 shRNA 组比较。

Figure 5. Effects of NaHS on H/R injury of endothelial cells through upregulation of WDR26

NR 现象,在很大程度上影响了术后的疗效^[3]。NR 现象源于严重缺血引发的心肌细胞和内皮细胞损伤。经皮冠状动脉介入治疗术后血管再通,虽可使局部血流得到一定程度的恢复,但却会导致局部 ROS 生成增多,进而促进中性粒细胞和血小板聚集,造成微血管腔内堵塞;此外,自主神经功能障碍会引发冠状动脉微血管收缩、内皮屏障完整性受损、组织水肿并产生机械压迫等一系列变化,这些因素共同导致局部心肌缺血状况更为严重^[20-22]。

鉴于心肌微循环障碍是导致 NR 现象的关键机制,其中内皮细胞的功能与结构损伤和微循环管腔内堵塞、血管收缩、微血管壁肿胀等变化紧密相关,所以本研究运用 HUVEC 构建 H/R 模型,以探究 H₂S 对 H/R 内皮细胞的影响及其可能机制。结果发现,在 H/R 条件下,一定浓度的 H₂S 作用于内皮细胞后,可降低 ROS 及 MDA 含量,减轻氧化应激损伤,进而提高细胞存活率。已有研究显示, H₂S 能够

减轻脂多糖诱导的 AKI 小鼠血浆中炎症细胞因子的升高以及 MDA 含量的上升,还可降低 ROS 含量,缓解氧化应激^[23]。本研究结果与上述研究相符。不过,实验同时发现,高浓度的 H₂S 对细胞具有不利影响,可能引发细胞损伤与坏死,这和 Bindu 等所观察到的 H₂S 双相作用相契合;而在低生理浓度下, H₂S 能够推动细胞的生长与代谢,发挥细胞保护作用^[24]。

WDR26 作为 WD 重复蛋白超家族的一员,是 G 蛋白信号通路的关键支架蛋白,可发挥强大的抗凋亡及促细胞存活作用。研究表明, WDR26 在心肌缺血和细胞缺氧期间上调,抑制 H₂O₂/Ca²⁺ 诱导的线粒体通透性转换孔的开放,从而抑制促凋亡蛋白的释放和线粒体肿胀;还能促进电压依赖性阴离子通道 1 的降解来下调其表达,从而减少由 H₂O₂ 引起的细胞凋亡、线粒体膜电位降低和 LDH 的释放^[11,25]。由于低浓度的 H₂S 通常发挥细胞保护作用

用,通过抗炎、抗氧化、抑制凋亡信号通路等机制促进细胞存活,与 WDR26 抗凋亡和促细胞存活作用方向一致。为了探究 H/R 处理后的 HUVEC 中 H₂S 与 WDR26 之间的关系,本研究检测了各组细胞中 WDR26 的蛋白表达情况,结果发现,NaHS 处理后 WDR26 的表达增高,PPG 处理后 NaHS 诱导的 WDR26 高表达被抑制,表明 H₂S 减轻内皮细胞 H/R 损伤与 WDR26 有关。

研究显示,WDR26 过表达时,LC3 II/LC3 I 比值增加,p62 表达显著降低,表明 WDR26 可以促进细胞缺氧诱导的自噬,对缺氧的心肌细胞起到保护作用^[10]。为了进一步探究 WDR26 在 H/R 处理后的 HUVEC 中发挥的作用,本研究采用慢病毒转染技术过表达/抑制表达 WDR26,对其细胞生存率、培养上清液中 LDH 含量以及凋亡相关蛋白进行检测。结果发现,WDR26 过表达可显著提高细胞生存率、减少 LDH 的生成,并减轻细胞凋亡;而抑制 WDR26 表达时,结果则与之相反。

作为白细胞和内皮细胞的跨膜蛋白,ICAM-1 在稳定细胞间相互作用和促进白细胞和内皮细胞的迁移中起到重要作用^[26]。ICAM-1 在静息的内皮细胞上呈现低水平表达,但在炎症状态下表达增高^[27-28]。当心肌 I/R 损伤时,ICAM-1 在内皮细胞中的过度表达会促进心肌微循环障碍的发生与发展。已有研究发现,H₂S 可以通过下调内皮细胞 ICAM-1 的表达来抑制高糖诱导的血管损伤^[29]。本研究结果发现,H₂S 可以下调内皮细胞 ICAM-1 的表达,同时发现,无论是过表达 WDR26 还是给予 NaHS 处理,都能降低 H/R 内皮细胞 ICAM-1 表达,而在过表达 WDR26 基础上给予 NaHS 处理,其表达进一步减少。与之相反,抑制 WDR26 的表达会导致 H/R 内皮细胞 ICAM-1 表达增加,而在抑制 WDR26 的基础上进行 NaHS 处理,其表达与抑制 WDR26 组相比有所减少,但相较于 LV-Con+NaHS 组则有所增多。

ET-1 的缩血管效应能够促使心肌 I/R 损伤时的微循环障碍产生,进而造成心肌供血不足相应后果;此外,ET-1 还可反射性地抑制心率,诱发心律失常相关问题以及心肌能量代谢导致的功能障碍^[30-31]。既往研究已证实,H₂S 可抑制血管紧张素 II 诱导的 ET-1 生成以及内皮细胞内质网应激^[32]。本研究结果发现,H₂S 可以下调内皮细胞 ET-1 的表达,与 Hu 等的研究结果一致。本研究结果还发现,与空载 WDR26 比较,无论是过表达 WDR26 还是给予 NaHS 处理,都能降低 H/R 内皮细胞 ET-1 的分泌,

而在过表达 WDR26 基础上给予 NaHS 处理,其分泌进一步减少;与之相反,与空载 WDR26 比较,抑制 WDR26 表达会使 H/R 内皮细胞 ET-1 的分泌增高,而在抑制 WDR26 的基础上给予 NaHS 处理,其分泌较抑制 WDR26 组减少,较空载 WDR26+NaHS 组增多。除此之外,本研究结果还发现,过表达/抑制表达 WDR26 能增强/拮抗 H₂S 对细胞存活率及 LDH 的作用。以上结果表明,过表达 WDR26 和给予外源性 H₂S 都能改善内皮细胞功能,过表达/抑制表达 WDR26 时其保护作用被增强/削弱,说明 H₂S 的保护作用与促进 WDR26 的表达有关。

由于 WDR26 蛋白具备 WD 重复序列,该序列是一种通常由约 40 个氨基酸构成的结构模块,多个此类模块会形成一个类似 β-螺旋桨的圆盘状结构。这种结构是蛋白质相互作用的理想平台。有研究显示,WDR26 能够特异性地与 Gβγ 亚基相结合,强效激活 Akt 这条关乎细胞存活、增殖和代谢的关键通路;同时抑制与细胞增殖分化相关的 Erk 通路,整体上发挥强大的抗凋亡和促进细胞存活的作用^[33]。而低剂量的 H₂S 能够激活细胞内的生存信号通路(如 Akt,Erk),使心肌细胞对后续的严重缺血损伤产生耐受性。由此可见,WDR26 与 H₂S 均可作用于 Akt,Erk 通路,二者有可能存在结合关系或相互作用关系,其具体机制尚待进一步研究。

[参考文献]

- [1] YU L, CHEN J, ZHANG J. Meta-analysis of the correlation between inflammatory response indices and no-reflow after PCI in patients with acute STEMI[J]. *Am J Transl Res*, 2024, 16(10): 5168-5181.
- [2] ANNIBALI G, SCROCCA I, ARANZULLA T C, et al. "No-reflow" phenomenon; a contemporary review [J]. *J Clin Med*, 2022, 11(8): 2233.
- [3] NDREPEPA G, KASTRATI A. Coronary no-reflow after primary percutaneous coronary intervention-current knowledge on pathophysiology, diagnosis, clinical impact and therapy [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(17): 5592.
- [4] 周瑾,王威,谢宇霖,等. 周细胞和内皮细胞在经皮冠状动脉介入治疗术后无复流现象中的作用机制进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(4): 349-352.
ZHOU J, WANG W, XIE Y L, et al. The mechanisms by which pericytes and endothelial cells can participate in no reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention[J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(4): 349-352.
- [5] CORVINO A, CALIENDO G. Hydrogen sulfide (H₂S)-donor molecules: chemical, biological, and therapeutical tools[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(14): 7932.
- [6] ZHENG H, CHEN H, CAI Y, et al. Hydrogen sulfide-mediated persulfidation regulates homocysteine metabolism and enhances fer-

- roptosis in non-small cell lung cancer [J]. *Mol Cell*, 2024, 84 (20): 4016-4030.
- [7] LIU Y F, ZHANG Y X, ZHU Y W, et al. Hydrogen sulfide in musculoskeletal diseases: molecular mechanisms and therapeutic opportunities [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2025, 42(7/9): 321-340.
- [8] SUN H J, WU Z Y, NIE X W, et al. An updated insight into molecular mechanism of hydrogen sulfide in cardiomyopathy and myocardial ischemia/reperfusion injury under diabetes [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 651884.
- [9] ANSARI S B, KURIAN G A. Hydrogen sulfide modulates sub-cellular susceptibility to oxidative stress induced by myocardial ischemic reperfusion injury [J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 252: 28-35.
- [10] FENG Y, ZHAO J, HOU H, et al. WDR26 promotes mitophagy of cardiomyocytes induced by hypoxia through Parkin translocation [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2016, 48 (12): 1075-1084.
- [11] ZHU H L, WEI X, QU S L, et al. Ischemic postconditioning protects cardiomyocytes against ischemia/reperfusion injury by inducing MIP2 [J]. *Exp Mol Med*, 2011, 43(8): 437-445.
- [12] ZHEN R, MOO C, ZHAO Z, et al. WDR26 regulates nuclear condensation in developing erythroblasts [J]. *Blood*, 2020, 135 (3): 208-219.
- [13] YE Y, TANG X, SUN Z, et al. Upregulated WDR26 serves as a scaffold to coordinate PI3K/AKT pathway-driven breast cancer cell growth, migration, and invasion [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(14): 17854-17869.
- [14] 韦星. 新基因 MIP2 的表达及心肌细胞保护作用研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- WEI X. Studies on the expression pattern and cardiomyocyte protection roles of novel gene MIP2 [D]. Changsha: Central South University, 2010.
- [15] 胡佳, 谢佳欣, 成姣, 等. 内皮细胞低氧复氧损伤模型的建立 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(6): 506-511.
- HU J, XIE J X, CHENG J, et al. Establishment of hypoxia/reoxygenation injury model of endothelial cells [J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(6): 506-511.
- [16] BAI L, DAI J, XIA Y, et al. Hydrogen sulfide ameliorated high choline-induced cardiac dysfunction by inhibiting cGAS-STING-NLRP3 inflammasome pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 1392896.
- [17] SILVA-VELASCO D L, HONG E, BELTRAN-ORNELAS J H, et al. Hydrogen sulfide ameliorates hypertension and vascular dysfunction induced by insulin resistance in rats by reducing oxidative stress and activating eNOS [J]. *Eur J Pharmacol*, 2024, 963: 176266.
- [18] MIAO Y, ZHHANG S, LIANG Z, et al. Hydrogen sulfide ameliorates endothelial dysfunction in aging arteries by regulating ferroptosis [J]. *Nitric Oxide*, 2023, 140/141: 77-90.
- [19] WARNER E D, ULLAH W, FARBER J, et al. PCI for acute myocardial infarction in patients with a pre-existing LVAD, does it improve survival? [J]. *Artif Organs*, 2023, 47(4): 761-769.
- [20] BOULETI C, MEWTON N, GERMAIN S. The no-reflow phenomenon: state of the art [J]. *Arch Cardiovasc Dis*, 2015, 108(12): 661-674.
- [21] KLONER R A, GANOTE C E, JENNINGS R B. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog [J]. *J Clin Invest*, 1974, 54(6): 1496-1508.
- [22] WANG L, NIU H, ZHANG J. Homocysteine induces mitochondrial dysfunction and oxidative stress in myocardial ischemia/reperfusion injury through stimulating ROS production and the ERK1/2 signaling pathway [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(2): 938-944.
- [23] CHEN Y, JIN S, TENG X, et al. Hydrogen sulfide attenuates LPS-induced acute kidney injury by inhibiting inflammation and oxidative stress [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 6717212.
- [24] PAUL B D, SNYDER S H, KASHFI K. Effects of hydrogen sulfide on mitochondrial function and cellular bioenergetics [J]. *Redox Biol*, 2021, 38: 101772.
- [25] JIANG L, WANG H, CHEN G, et al. WDR26/MIP2 interacts with VDAC1 and regulates VDAC1 expression levels in H9c2 cells [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 117: 58-65.
- [26] WANG L, CHEN Y, FENG D, et al. Serum ICAM-1 as a predictor of prognosis in patients with acute ischemic stroke [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 5539304.
- [27] SINGH V, KAUR R, KUMARI P, et al. ICAM-1 and VCAM-1: gatekeepers in various inflammatory and cardiovascular disorders [J]. *Clin Chim Acta*, 2023, 548: 117487.
- [28] HABAS K, SHANG L. Alterations in intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in human endothelial cells [J]. *Tissue Cell*, 2018, 54: 139-143.
- [29] GUAN Q, WANG X, GAO L, et al. Hydrogen sulfide suppresses high glucose-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 in endothelial cells [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2013, 62(3): 278-284.
- [30] PANDEY S, MADREITER-SOKOLOWSKI C T, MANGMOOL S, et al. High glucose-induced cardiomyocyte damage involves interplay between endothelin ET-1/ETA/ETB receptor and mTOR pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 13816.
- [31] KOSTOV K, BLAZHEV A. Circulating levels of endothelin-1 and big endothelin-1 in patients with essential hypertension [J]. *Pathophysiology*, 2021, 28(4): 489-495.
- [32] HU H J, JIANG Z S, ZHOU S H, et al. Hydrogen sulfide suppresses angiotensin II-stimulated endothelin-1 generation and subsequent cytotoxicity-induced endoplasmic reticulum stress in endothelial cells via NF- κ B [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(5): 4729-4740.
- [33] SUN Z, SMRCKA A V, CHEN S. WDR26 functions as a scaffolding protein to promote G β γ -mediated phospholipase C β 2 (PLC β 2) activation in leukocytes [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(23): 16715-16725.
- (此文编辑 文玉珊)